美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫的抗性及相关机理

方 杰[1]，赵博光[2,*]
(1. 安徽大学生命科学学院，合肥 230039；2. 南京林业大学森林资源与环境学院，南京 210037)

摘要：为了选育出在生产上具有推广价值的美洲黑杨 *Populus deltoides* 优良抗虫品系，本研究以分月扇舟蛾 *Clostera anastomosis* 3 龄幼虫为材料，以 I-72 杨为对照评价和分析了 18 个美洲黑杨无性系在实验室条件(28±1℃，RH 70%，16L:8D)下的抗虫性，通过选择性和非选择性取食实验筛选出了 11 个具有较强抗性的无性系；测定了美洲黑杨主要营养物质和次生代谢物质含量，研究了不同无性系对分月扇舟蛾体内保护酶和消化酶活性及对该虫生长发育和食物利用的影响。结果表明：美洲黑杨不同无性系抗性的大小与它们叶片中总酚含量呈明显正相关趋势；抗性水平不同的无性系对分月扇舟蛾幼虫的生长发育和食物利用有不同的影响，表现在幼虫体重、每日体重增加量、相对生长率、近似消化率、食物利用率和食物转化率等主要生长发育指标的变化上，同时对分月扇舟蛾幼虫取食量和排粪量亦有不同的影响。结果说明，分月扇舟蛾对次生代谢物质的反应更为敏感，抗性无性系对分月扇舟蛾幼虫体内 SOD 和 CAT 酶活性有明显的激活作用。

关键词：美洲黑杨；分月扇舟蛾；选择试验；抗性；无性系；食物利用
中图分类号：Q965 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2011)09-1042-09

Resistance of different clones of *Populus deltoides* to *Clostera anastomosis* (Lepidoptera: Notodontidae) larvae and the related mechanisms

FANG Jie[1], ZHAO Bo-Guang[2,*] (1. College of Life Science, Anhui University, Hefei 230039, China; 2. College of Forest Resource and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to provide scientific suggestions for selecting new poplar strains resistant to insects, the resistance of 18 clones of *Populus deltoids* to 3rd instar larva of *Clostera anastomosis* was evaluated and analyzed in laboratory conditions (28±1℃, RH 70%, 16L:8D). The choice and no-choice experiments indicated that eleven of 18 clones had higher resistance to *C. anastomosis* larvae than I-72 (control). Main nutrients and secondary metabolites were measured, and activities of digestive and protective enzymes and their effects on food utilization and insect development were also studied. The results showed resistance of the clones tested in *P. deltoides* to *C. anastomosis* larvae was statistically and positively related with the content of phenolic compounds of their leaves. Differential effects of clones of *P. deltoides* on the growth and food utilization existed in larvae of *C. anastomosis*, as showed in the changes of the main indicators of growth and food utilization, such as larval weight, daily body weight gain, relative growth rate, approximate digestibility, efficiency of conversion of ingested food, and efficiency of conversion of digested food. Differential effects of clones of *P. deltoides* on food intake and feces excretion in larvae of *C. anastomosis* also existed. The results suggest that *C. anastomosis* are more sensitive to secondary metabolites and the clones of *P. deltoides* have apparently active effects on activities of SOD and CAT in *C. anastomosis* larvae.

Key words: *Populus deltoides*; *Clostera anastomosis*; choice test; resistance; clone; food utilization

美洲黑杨 *Populus deltoids* 是重要的造林用材树种之一，其天然林具有丰富的遗传变异，是杨树育种不可缺少的物质基础。自 20 世纪 70 年代引进美洲黑杨以来，杨树育种研究得到了迅速的发展，改变了我国杨树栽培的格局(李世峰等, 2006)。我国从 20 世纪 80 年代初开始引进的 I-72 杨等品种，在长期的大面积栽培过程中，品质逐渐退化，抗病虫害能力较差(方杰等, 2008)，因此选育抗虫性品种

基金项目：国家林业局“948”项目(2005-4-19)
作者简介：方杰，男，1979 年生，安徽祁门人，硕士，讲师，研究方向为昆虫化学生态学，E-mail：ahufangjie@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：zhbg596@126.com
收稿日期 Received：2010-12-31；接受日期 Accepted：2011-05-11

在杨树栽培和害虫综合治理以及杨树产业化栽培上存在着广阔的发展空间与前景，也是当前育种和森保工作者所面临的一项紧迫任务。研究受昆虫危害程度在美洲黑杨不同无性系间的变化规律以及引起这种抗性差异的机理，不仅可以在理论上进一步探讨其抗虫机制，还可以为利用树种选择进行害虫的综合治理提供理论依据。一般认为，I-72 杨对于鳞翅目昆虫来说是感性品种，所以在室内常以此品种饲养昆虫，以这一品种为对照能够比较其他无性系的抗性程度(方杰等，2008)。

本文研究了 18 个美洲黑杨无性系在实验室条件下的抗虫性，筛选出了 11 个具有较强抗性的无性系，并分析了不同无性系的抗性与其叶片中主要营养物质和次生代谢物质含量的关系，以及不同无性系对分月扇舟蛾 *Clostera anastomosis* (L.)体内有关酶活性的影响。在此基础上，挑选出相对于对照抗性有明显差异的 3 个无性系(即抗性较强的 89-3，感性较强的 74-4 以及抗性程度与对照基本相似的 66-9)，以 I-72 杨为对照，研究它们对分月扇舟蛾幼虫生长和食物利用的影响，为深入理解抗性水平不同的杨树品种对植食性昆虫的影响提供基础。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

分月扇舟蛾幼虫采集于江苏省濉宁县，于实验室条件(28 ±1℃，RH 70%，16L∶8D)下用新鲜杨树叶片进行人工饲养，试验时选取同龄期生理状态一致的健康幼虫，饥饿 3 h 后供试。

1.2　供试美洲黑杨

于南京林业大学杨树新品种采育圃采集 18 个美洲黑杨无性系中部的健康、新鲜叶片，用 I-72 杨作对照。材料由南京林业大学杨树育种课题组提供。

1.3　选择性取食实验

将美洲黑杨不同无性系叶碟和对照叶碟(I-72 杨)(面积为 2 cm×2 cm)各 6 片同时放置于直径为 9 cm、衬有湿滤纸的培养皿中，分别接入已饥饿 3 h 的分月扇舟蛾 3 龄幼虫各 3 头，用保鲜膜封好，置于生化培养箱(28 ±1℃，RH 70%，16L∶8D)中，各 10 次重复。24 h 后用坐标纸测量被取食的叶面积(精度为 mm^2)，并计算相对取食率。

相对取食率(%)=(对照组取食叶面积－处理组取食叶面积)/(对照组取食叶面积＋处理组取食叶面积)×100

1.4　非选择性取食实验

叶片处理同 1.3，在直径为 6 cm 的培养皿中放入 2 片叶碟(面积为 4 cm×4 cm)，然后分别接入已饥饿 3 h 的分月扇舟蛾 3 龄幼虫各 1 头，用保鲜膜封好，置于生化培养箱(28 ±1℃，RH 70%，16L∶8D)中，各重复 30 次。24 h 后用坐标纸测量被取食的叶面积(mm^2)，并计算相对取食率。

相对取食率(%)=(对照组取食叶面积－处理组取食叶面积)/对照组取食叶面积×100

1.5　美洲黑杨叶片主要营养物质和次生代谢物质含量的测定

蛋白质的测定采用 Folin-酚法(张龙翔等，1997)。可溶性总糖含量的测定采用蒽酮试剂法(张志良和瞿伟菁，2003)。总酚含量的测定采用 Swain 和 Hills(1959)的方法。

1.6　分月扇舟蛾酶液的提取及指标测定

消化酶以预冷的 pH 5.6 的磷酸缓冲液为提取液，保护酶以 1% 聚乙烯吡咯烷酮(用 pH 7.0 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液配制)为提取液。取分月扇舟蛾 3 龄幼虫 3 头加入 2 mL 提取液，在冰浴中研磨提取，匀浆液在 6 000 r/min 下离心 15 min(TGL-16G-A 型高速冷冻离心机，上海安亭科学仪器厂)，上清液即为酶提取液。

淀粉酶活性的测定参照蒋传葵等(1982)的方法。蔗糖酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法(朱俭等，1981)。蛋白酶活力的测定采用福林-酚法(朱俭等，1981)。超氧歧化酶(SOD)活性参照李周直等(1994)的方法测定。

过氧化物酶(POD)活性按略改进的 Simon 等(1974)方法测定。3 mL 反应体系中含 100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 6)，30 mmol 愈创木酚，26 mmol/L H_2O_2 和 150 μL 酶液，作用 5 min，在 470 nm 下比色。过氧化氢酶(CAT)活性按略改进的 Chance 和 Machly(1995)的方法测定。5 mL 反应液中含 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7)，8 mmol/L H_2O_2 和 100 μL 酶液，30℃下反应 1 min，加 2 mL 10% H_2SO_4 终止反应，用 2 mmol/L $KMnO_4$ 滴定剩余 H_2O_2，根据 H_2O_2 的消失量计算 CAT 活性。酶蛋白的测定采用福林-酚法(朱俭等，1981)。

1.7　美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫生长和食物利用的影响

将美洲黑杨无性系的新鲜叶碟(面积为 3 cm×4 cm)各 4 片称重后放入直径为 9 cm 的培养皿中，以 I-72 杨作对照。然后分别接入已饥饿 3 h、已称

重的 3 龄幼虫 10 头，用保鲜膜封好，各重复 10 次。每日换叶时，同时对供试幼虫、剩余食料及粪便称重，直到幼虫老熟化蛹结束。

幼虫摄食量的计算采用李镇宇等(1998)的方法，即：每日取食量 =（当日投食量 – 次日残留剩余量）×（1 – 失水率%）。幼虫对食物消化和利用的指标根据以下公式来计算：相对生长率(relative growth rate，RGR) = 体重增加量/(平均体重 × 取食时间)；近似消化率(approximate digestibility，AD) =（取食量 – 排泄量）/取食量 × 100；食物利用率(efficiency of conversion of ingested food，ECI) = 体重增加/取食量 × 100；食物转化率(efficiency of conversion of digested food，ECD) = 体重增加/(取食量 – 排泄量) × 100。

1.8 数据统计与分析

文中数据均以平均数 ± 标准误(*SE*)表示，方差分析采用邓肯氏新复极差检验法(Duncan's Multiple Range Test，DMRT)，以 SPSS 11.5 软件计算所得。

2 结果与分析

2.1 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫取食行为的影响

从表 1 可以看出，94-30，94-12 和 74-4 无性系在非选择性条件和选择性条件时对于 I-72 杨的相对取食率均小于零，即相对于 I-72 杨的取食量更大，说明这几个无性系相对于 I-72 杨更容易受分月扇舟蛾的取食，因此这几个无性系在本研究的标准下可视为敏感无性系。81-16，81-22 和 66-9 无性系在选择性条件时的取食情况与 I-72 杨基本一致，而它们在非选择性条件时的相对取食率都在 10% 以下，取食量与对照差异不显著($P<0.05$)，说明这几个无性系在抗虫性方面和对照是基本一致的，因此这几个无性系在本研究的标准下亦可视为敏感无性系。以取食量和相对取食率为标准，95-44，96-10，102-14，104-2，89-2，89-3，89-7，40-1，45-1，86-98 和 86-8 无性系对分月扇舟蛾均具有不同程度的抗性，无论是在选择性和非选择性试验中，均具

表 1 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫取食行为的影响

Table 1 Effects of certain clones of *Populus deltoides* on feeding behavior of *Clostera anastomosis* larvae

无性系 Clone	非选择性试验 Non-choice test		选择性试验 Choice test		
	取食量(mm^2) Food intake	相对取食率(%) Relative consumption rate	取食量 Food intake (mm^2) 处理 Treatment	对照 Control	相对取食率(%) Relative consumption rate
95-44	540.60 ± 8.47 c	42.12 ± 0.91 g	122.40 ± 3.32 c	1 570.80 ± 7.00 g	85.55 ± 0.33 ef
96-10	637.40 ± 8.06 e	31.80 ± 0.86 e	146.80 ± 4.35 c	1 442.10 ± 6.81 f	81.52 ± 0.56 e
102-14	632.00 ± 3.36 e	32.33 ± 0.36 e	126.30 ± 2.24 c	1 706.00 ± 3.18 i	86.20 ± 0.26 ef
104-2	324.60 ± 5.83 b	65.25 ± 0.62 h	18.60 ± 2.92 ab	2 257.90 ± 2.97 l	98.37 ± 0.26 ij
86-14	540.30 ± 6.09 c	-32.00 ± 0.65 b	33.40 ± 0.92 ab	2 294.60 ± 7.47 l	97.13 ± 0.06 ij
89-2	631.60 ± 9.41 e	32.38 ± 1.01 e	95.20 ± 0.97 bc	1 641.90 ± 6.35 h	89.04 ± 0.09 fg
89-3	220.00 ± 3.58 a	76.45 ± 0.38 i	9.10 ± 3.67 a	2 301.20 ± 7.61 l	99.21 ± 0.32 j
89-7	330.90 ± 7.53 b	64.58 ± 0.81 h	92.90 ± 7.50 abc	1 946.10 ± 6.35 k	90.92 ± 0.71 fgh
94-30	1 276.00 ± 8.81 g	−36.62 ± 0.94 a	1 393.30 ± 3.19 f	230.30 ± 6.16 b	−71.63 ± 0.46 b
81-16	873.60 ± 7.88 f	6.47 ± 0.84 d	752.80 ± 4.46 e	701.40 ± 3.06 c	−3.70 ± 2.57 c
94-12	1 269.00 ± 8.53 g	−35.87 ± 0.91 a	1 303.90 ± 7.62 f	235.50 ± 11.21 b	−69.47 ± 1.23 b
40-1	341.00 ± 8.31 b	63.49 ± 0.89 h	16.60 ± 1.29 ab	1 741.70 ± 8.61 i	98.11 ± 0.14 ij
45-1	635.90 ± 2.47 e	32.01 ± 0.26 e	31.20 ± 9.22 ab	1 830.50 ± 5.56 j	96.67 ± 0.96 hij
81-22	886.20 ± 5.30 f	5.12 ± 0.57 d	912.30 ± 8.91 e	889.80 ± 5.01 de	−0.62 ± 6.60 c
74-4	1 254.70 ± 24.48 g	−34.35 ± 1.17 a	1 517.00 ± 9.82 g	11.60 ± 3.15 a	−98.49 ± 0.40 a
86-98	336.80 ± 6.40 b	63.94 ± 0.69 h	65.60 ± 6.19 abc	1 630.70 ± 9.46 h	92.34 ± 1.85 ghi
86-8	570.40 ± 10.20 d	38.93 ± 1.09 f	342.90 ± 7.45 d	866.20 ± 4.46 d	43.27 ± 0.67 d
66-9	918.00 ± 5.70 f	1.71 ± 0.61 c	916.80 ± 6.99 e	934.00 ± 8.21 e	0.99 ± 3.31 c
I-72 (CK)	933.80 ± 5.79 f				

表中数据为平均值 ± 标准误，同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P<0.05$，邓肯氏新复极差测验)；下同。The data in the table are mean ± *SE*, and those in the same column followed by different small letters are significantly different ($P<0.05$, Duncan's multiple range test). The same below.

有较明显的趋势。因此这些无性系相对来说都是抗性无性系，除了86-8无性系较低外，其他无性系在非选择性条件时的相对取食率均在30%以上，选择性条件时的相对取食率均在80%以上。例如104-2无性系，在选择性条件下平均取食量仅为18.60 mm^2，几乎不取食，而在选择性条件下却高达324.60 mm^2，40-1和45-1无性系也有类似的情况。

2.2　美洲黑杨不同无性系叶片主要化学成分含量对分月扇舟蛾取食行为的影响

从表2中可以看出，美洲黑杨不同无性系抗性的大小与它们叶片中总酚含量呈明显正相关，即在一般情况下，无性系的总酚含量越高，其抗性越强。94-30，94-12和74-4等几个感性较强的无性系的总酚含量明显低于其他无性系；81-16，81-22和66-9等几个感性无性系的总酚含量与对照差异不显著，而这几个无性系对分月扇舟蛾幼虫取食的影响也与对照基本一致。其他抗性无性系的总酚含量一般都明显高于对照，初步判定美洲黑杨不同无性系的抗性大小与总酚含量有一定的关系。但其中有一个例外，即86-8无性系，其在选择性和非选择性试验中的取食量均显著低于对照，在本研究中可以视为抗性无性系，但其总酚含量却也低于对照，看来还存在影响无性系抗性的其他因素。

表2　美洲黑杨不同无性系叶片中主要化学成分含量

Table 2　Content of main chemical components in leaves of certain clones of *Populus deltoides*

无性系 Clone	蛋白质含量(OD/g FW) Protein content	总糖含量(%) Content of carbohydrates	总酚含量(OD/g FW) Content of phenolic compounds
95-44	5.71 ±0.27 d	22.74 ±0.17 b	8.78 ±0.21 e
96-10	5.29 ±0.31 b	23.05 ±0.15 c	8.06 ±0.28 d
102-14	5.57 ±0.16 c	22.96 ±0.24 bc	8.29 ±0.34 de
104-2	4.84 ±0.24 a	22.37 ±0.32 b	8.51 ±0.15 e
86-14	5.33 ±0.22 b	22.68 ±0.25 b	7.97 ±0.21 d
89-2	5.69 ±0.30 c	21.97 ±0.09 a	9.01 ±0.40 e
89-3	5.81 ±0.14 d	23.28 ±0.54 c	8.54 ±0.31 e
89-7	6.02 ±0.08 e	23.55 ±0.34 d	8.67 ±0.04 e
94-30	4.87 ±0.14 a	23.58 ±0.27 d	4.71 ±0.31 a
81-16	5.38 ±0.18 b	24.08 ±0.36 e	6.14 ±0.25 c
94-12	5.64 ±0.41 c	22.65 ±0.17 b	4.54 ±0.51 a
40-1	6.15 ±0.33 e	23.24 ±0.24 c	8.85 ±0.07 e
45-1	4.98 ±0.35 a	23.05 ±0.26 c	8.69 ±0.16 e
81-22	5.47 ±0.09 bc	22.65 ±0.41 b	5.97 ±0.24 c
74-4	6.01 ±0.17 e	21.85 ±0.37 a	4.83 ±0.18 a
86-98	4.98 ±0.28 a	22.84 ±0.19 bc	8.64 ±0.15 e
86-8	5.32 ±0.44 b	23.06 ±0.14 c	5.54 ±0.09 b
66-9	5.54 ±0.37 c	21.91 ±0.28 a	5.98 ±0.31 c
I-72 (CK)	5.72 ±0.20 d	22.57 ±0.09 b	6.02 ±0.26 c

同时，抗性水平不同的美洲黑杨无性系，其蛋白质含量和总糖含量均不呈规律性变化，这说明美洲黑杨不同无性系的抗性水平与蛋白质含量和总糖含量之间无相关性，即各无性系的蛋白质含量和总糖含量与其抗虫和感虫程度无关。

2.3　美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾体内消化酶和保护酶活性的影响

大多数抗性无性系对分月扇舟蛾体内的3种消化酶活性有显著的抑制作用(表3)，例如86-98和40-1无性系的淀粉酶活性与对照相比，分别下降44.12%和41.91%；86-14和89-7无性系的蔗糖酶活性比对照分别下降31.76%和32.94%；86-98和89-3的蛋白酶活性比对照分别下降56.61%和54.50%。这其中也有些例外，例如89-7无性系的淀粉酶活性比对照略高，102-14无性系的蛋白酶活性比对照略高，但它们的另外两种消化酶活性均显著受到抑制。同时，94-30，94-12和74-4等几个感性无性系3种消化酶的活性一般比对照有一定的提

高。但是94-30无性系的蛋白酶活性受到了一些抑制，但和对照相比，差异不显著。81-16，81-22，66-9等几个感性与对照相似的无性系消化酶活性的变化也与对照基本相似，但81-22无性系的淀粉酶活性，66-9无性系的淀粉酶和蛋白酶活性较对照受到显著抑制。

分月扇舟蛾幼虫取食抗性无性系后，体内SOD和CAT酶活性相对于对照明显上升(表3)。例如95-44和86-98的SOD活性比对照分别上升了98.28%和77.59%；89-2和86-98的CAT活性比对照分别上升了109.79%和101.40%。说明这些无性系对分月扇舟蛾的SOD和CAT酶活性有明显的激活作用。而94-30，94-12和74-4等几个感性无性系对这两种酶的活性影响不大，甚至有轻微抑制作用。

表3 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾体内消化酶和保护酶活性的影响

Table 3 Effect of certain clones of *Populus deltoides* on activities of digest enzymes and protective enzymes in *Clostera anastomosis* larvae

无性系 Clone	消化酶 Digestive enzymes			保护酶 Protective enzymes		
	淀粉酶 Amylase (U/mg·min)	蔗糖酶 Sucrase (mg/mg·min)	蛋白酶 Proteinase (U/mg·min)	SOD (U/mg)	POD (U/mg·min)	CAT (U/mg·min)
95-44	0.10±0.041 b	0.06±0.01 a	0.10±0.04 a	0.12±0.01 d	0.05±0.01 b	0.81±0.08 c
96-10	0.11±0.02 b	0.07±0.01 ab	0.15±0.04 c	0.09±0.02 c	0.06±0.01 c	0.85±0.14 d
102-14	0.09±0.02 ab	0.08±0.00 b	0.20±0.03 de	0.10±0.02 c	0.04±0.01 a	0.76±0.09 c
104-2	0.09±0.03 a	0.06±0.02 a	0.12±0.06 b	0.09±0.01 b	0.05±0.01 c	0.82±0.12 cd
86-14	0.13±0.02 c	0.06±0.02 a	0.19±0.04 d	0.09±0.02 b	0.05±0.02 bc	0.79±0.05 c
89-2	0.09±0.03 a	0.06±0.03 a	0.09±0.03 a	0.10±0.01 c	0.05±0.01 b	0.90±0.09 d
89-3	0.08±0.06 a	0.07±0.02 ab	0.09±0.10 a	0.09±0.03 b	0.04±0.00 a	0.79±0.06 c
89-7	0.14±0.03 cd	0.06±0.01 a	0.10±0.02 a	0.08±0.01 b	0.04±0.01 a	0.80±0.10 c
94-30	0.15±0.03 d	0.09±0.01 c	0.18±0.01 d	0.06±0.0 a	0.06±0.01 c	0.43±0.08 a
81-16	0.13±0.05 c	0.09±0.01 c	0.18±0.019 d	0.05±0.03 a	0.05±0.01 c	0.40±0.07 a
94-12	0.15±0.01 d	0.09±0.01 c	0.22±0.01 e	0.05±0.04 a	0.05±0.00 b	0.42±0.12 a
40-1	0.08±0.01 a	0.08±0.00 c	0.09±0.03 a	0.08±0.01 b	0.04±0.01 a	0.86±0.11 d
45-1	0.09±0.01 ab	0.06±0.00 a	0.10±0.03 a	0.09±0.03 c	0.05±0.01 c	0.85±0.02 d
81-22	0.10±0.03 b	0.09±0.02 c	0.19±0.02 d	0.05±0.00 a	0.04±0.00 a	0.50±0.04 b
74-4	0.15±0.02 d	0.08±0.03 c	0.21±0.06 e	0.06±0.01 a	0.04±0.01 a	0.47±0.04 b
86-98	0.07±0.02 a	0.06±0.01 a	0.08±0.02 a	0.10±0.02cd	0.05±0.01 c	0.86±0.03 d
86-8	0.11±0.02 b	0.08±0.03 b	0.13±0.03 b	0.05±0.02 a	0.04±0.00 a	0.40±0.13 a
66-9	0.09±0.01 ab	0.08±0.02 c	0.14±0.02 c	0.06±0.02 a	0.05±0.02 bc	0.41±0.04 a
I-72 (CK)	0.14±0.01 c	0.09±0.01 c	0.19±0.01 d	0.06±0.01 a	0.05±0.01 bc	0.43±0.09 a

2.4 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫生长和食物利用的影响

从表4中可以看出，抗性水平不同的无性系对分月扇舟蛾幼虫的生长有不同的影响，表现在幼虫体重、每日体重增加量、相对生长率等主要生长指标的变化上。抗性较强的89-3无性系对分月扇舟蛾幼虫的生长发育有显著的抑制作用，取食后第2，3和4天的幼虫体重比对照分别下降19.20%，22.25%和27.61%，每日体重增加量比对照分别下降40.84%，29.87%和40.70%，相对生长率比对照分别下降32.27%，9.79%和17.93%。而感性较强的74-4无性系对分月扇舟蛾幼虫的生长发育一般有显著的促进作用，取食后第2，3和4天的幼虫体重比对照分别上升7.91%，8.23%，22.62%，每日体重增加量比对照分别上升13.55%，9.03%和57.06%，相对生长率比对照分别上升15.52%，0.10%和28.28%。只是取食后第3天的相对生长率与对照差异不显著。

表 4　美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫生长和食物利用的影响

Table 4　Effect of certain clones of *Populus deltoides* on the growth and food utilization of *Clostera anastomosis* larvae

取食后天数 Days after feeding	无性系 Clone	幼虫体重 Larval weight (mg/larva)	每日体重增加量 Bodyweight gain per day (mg/larva)	相对生长率 Relative growth rate	近似消化率 Approximate digestibility	食物利用率 Efficiency of conversion of ingested food	食物转化率 Efficiency of conversion of digested food
2	89-3	54.85 ±2.78 a	15.11 ±3.54 a	0.275 ±0.032 a	62.38 ±3.21 b	33.48 ±3.24 a	53.68 ±7.24 a
	66-9	69.68 ±3.01 b	27.79 ±2.88 b	0.399 ±0.008 b	54.26 ±2.54 a	40.43 ±1.78 b	74.50 ±5.24 b
	74-4	73.25 ±3.55 b	34.38 ±2.54 bc	0.469 ±0.024 bc	53.53 ±289 a	44.07 ±1.86 c	82.33 ±1.32 bc
	I-72 (CK)	67.88 ±3.37 b	25.54 ±3.68 b	0.406 ±0.034 b	55.44 ±3.25 a	39.88 ±3.01 b	71.94 ±2.88 b
3	89-3	73.96 ±1.97 a	19.11 ±2.24 a	0.258 ±0.018 a	38.03 ±2.14 b	19.85 ±2.57 a	63.70 ±3.21 a
	66-9	96.16 ±2.56 b	26.48 ±2.41 b	0.275 ±0.019 b	36.32 ±1.98 b	20.76 ±2.14 a	57.17 ±5.57 a
	74-4	102.96 ±3.21 b	29.71 ±3.28 b	0.289 ±0.007 b	31.85 ±1.54 a	23.18 ±1.56 b	72.77 ±3.61 b
	I-72 (CK)	95.13 ±2.68 b	27.25 ±2.68 b	0.286 ±0.043 b	37.02 ±2.58 b	21.46 ±1.38 a	57.98 ±4.40 a
4	89-3	97.01 ±3.34 a	23.05 ±2.59 a	0.238 ±0.038 a	37.77 ±1.09 a	21.41 ±0.98 a	56.69 ±3.95 a
	66-9	135.28 ±2.87 b	39.12 ±3.47 b	0.289 ±00.21 b	42.37 ±3.12 a	20.56 ±1.25 a	48.54 ±3.24 a
	74-4	164.01 ±3.38 c	61.05 ±3.08 c	0.372 ±0.012 c	40.69 ±2.57 a	28.35 ±2.40 b	69.67 ±4.23 b
	I-72 (CK)	134.00 ±3.54 b	38.87 ±3.37 b	0.290 ±0.017 b	41.56 ±2.69 a	20.22 ±2.63 a	48.65 ±3.05 a

分月扇舟蛾取食 74-4 无性系后第 2，3 和 4 天的食物利用率较对照分别提高 10.51%，8.01% 和 39.71%，食物转化率分别提高 14.44%，25.51% 和 43.21%。但近似消化率比对照分别下降 3.45%，13.97% 和 2.09%。分月扇舟蛾取食 89-3 无性系后第 2 天的食物利用率和食物转化率较对照分别下降 16.05% 和 25.38%。取食后第 3 天的食物利用率下降了 7.50%，而食物转化率有所提高，但差异不显著。取食后第 4 天的食物利用率和食物转化率均有所上升，但差异也不显著。

从表 5 和表 6 中可以看出，抗性水平不同的无性系对分月扇舟蛾幼虫取食量和排粪量有不同的影响。抗性较强的 89-3 无性系对分月扇舟蛾幼虫取食量和排粪量有显著的抑制作用，取食后第 2，3，4 和 5 天的取食量比对照分别下降 34.64%，37.88%，44.00% 和 11.85%，排粪量分别下降 44.81%，38.88%，40.37% 和 10.38%，但第 6 天的取食量和排粪量比对照均略有上升；而感性较强的 74-4 无性系对分月扇舟蛾幼虫取食量和排粪量有一定的促进作用，取食后第 2，3，4，5 和 6 天的取食量比对照分别上升 12.98%，0.95%，12.03%，7.99% 和 99.05%，排粪量分别上升 17.81%，9.23%，13.69%，21.10% 和 7.25%。且分月扇舟蛾取食抗性水平不同的无性系后，其取食量和排粪量的变化趋势基本相似，均在第 5 天达到最高峰，然后开始下降。

3　讨论

总结分月扇舟蛾的取食试验，虽然在非选择性条件和选择性条件时的结果有所不同，但总的来说，95-44，96-10，102-14，104-2，89-2，89-3，89-7，40-1，45-1，86-98 和 86-8 无性系是抗性无性系；而 94-30，81-16，94-12，81-22，74-4 和 66-9 无性系是感性无性系。昆虫对食物的选择取决于昆虫的内在因素和对外来刺激的感受，许多试验表明，植食性昆虫对不同种类的食物及同种植物的不同无性系都具有食性上的差异(李会平等，2003；朱俊洪等，2005；梁洪柱等，2009)。大量研究表明次生性物质在昆虫寄主选择中发挥着重要的作用(何忠等，2007；曹凤勤等，2008；Li *et al*.，2010)。杨树中存在大量的次生化学物质，主要包括酚类物质和松柏安息香酸盐类物质，酚类物质主要存在于杨树叶片、树皮和根部，而松柏安息香酸盐只存在于花芽，这些物质的变化明显地影响着害虫的取食、生长和繁殖，成为杨树化学防御的重要基础(Picard *et al*.，1994)。房建军等(2002)对一些酚甙类物质的抗虫性状进行了基因定位的研究，但目前对各种酚类与抗虫性关系的研究结果不太一致，这可能与所研究的树种、昆虫种类及研究方法等因素有关。

表 5 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫取食量(mg/头)的影响

Table 5 Effect of certain clones of *Populus deltoides* on food intake (mg/larva) of *Clostera anastomosis* larvae

无性系 Clone	取食后天数 Days after feeding				
	2	3	4	5	6
89-3	45.13 ±3.27 a	78.88 ±2.58 a	107.65 ±5.63 a	265.83 ±15.24 a	97.94 ±10.01 a
66-9	68.74 ±5.68 b	127.54 ±9.64 b	190.25 ±8.54 b	297.58 ±8.54 b	109.54 ±7.54 a
74-4	78.01 ±4.12 bc	128.18 ±9.54 b	215.36 ±14.21 bc	325.69 ±9.65 c	178.65 ±8.65 b
I-72 (CK)	69.05 ±6.36 b	126.97 ±11.14 b	192.24 ±11.35 b	301.58 ±11.24 b	89.75 ±6.32 a

表 6 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫排粪量(mg/头)的影响

Table 6 Effect of certain clones of *Populus deltoides* on feces excretion (mg/larva) of *Clostera anastomosis* larvae

无性系 Clone	取食后天数 Days after feeding				
	2	3	4	5	6
89-3	16.98 ±2.35 a	48.88 ±5.21 a	66.99 ±5.47 a	175.38 ±10.24 a	68.44 ±5.47 a
66-9	31.44 ±3.21 b	81.22 ±8.21 b	109.65 ±5.67 b	203.34 ±9.77 ab	59.68 ±5.68 a
74-4	36.25 ±2.58 b	87.35 ±6.35 b	127.73 ±7.58 bc	236.98 ±12.54 bc	65.67 ±9.01 a
I-72 (CK)	30.77 ±1.98 b	79.97 ±4.46 b	112.35 ±3.41 b	195.69 ±7.62 ab	61.23 ±7.73 a

本文研究结果表明在影响美洲黑杨无性系间抗虫性的各因素中，次生代谢物质的含量与抗虫性的关系更为密切，即分月扇舟蛾对次生代谢物质的反应更为敏感。但究竟是其中哪一类酚类物质起作用以及单宁等次生代谢物质在植物抗虫中起何种作用，有待于进一步研究。在本研究中，分月扇舟蛾在选择性条件时的相对取食率比非选择性时要高，这可能是因为在选择性条件时，昆虫可以通过嗅觉、味觉等机能较为敏感的选择它们更嗜好的食料；而在非选择性的条件下，昆虫可能会被迫取食一些它们所不嗜好的食料。另外，人工接虫和自然感染是鉴定植物抗性两种不同方法，植物抗虫性除了生物化学基础外，还包括形态学基础(周明牂，1992)。在人工接种情况下，由于分月扇舟蛾被迫取食，植物不能发挥形态基础的抗虫性，其防御主要是基于生物化学基础。但如果是在自然感染情况下研究不同无性系间的抗性差异，其形态学上的抗虫性也必将发挥重要作用。

消化酶活性是昆虫营养与生理状况的良好指标，其活性的高低直接影响着昆虫的生长发育，国内有人研究了昆虫取食次生代谢物后体内消化酶活性的变化，但结果不尽相同(刘惠霞等，1998；王问学等，2000；Zeng and Cohen，2000；曹挥等，2003；Zhu-Salzman *et al*.，2003)。本研究发现大多数美洲黑杨抗性无性系对分月扇舟蛾幼虫体内的 3 种消化酶活性有显著的抑制作用，表明这些无性系的叶片中可能含有不利于昆虫消化的物质，导致昆虫中肠组织消化酶分泌减少，影响其对食物的正常消化。大量研究表明，昆虫体内存在超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等构成的保护酶系统，它与昆虫的抗逆性和耐药性有密切的关系(陈尚文，2001；Ding *et al*.，2001；王满囷和李周直，2002；王楠等，2008)。本研究结果表明抗性无性系对分月扇舟蛾幼虫体内 SOD 和 CAT 酶活性有明显的激活作用，但抗性水平不同的无性系对其 POD 酶活性的影响无显著相关性。笔者认为，食物中有害物质的存在导致分月扇舟蛾体内有关保护酶活性上升，以清除其体内可能升高的活性氧。今后有必要进一步研究分月扇舟蛾取食后一定时间内这些酶活性的变化动态，并将酶活性的变化动态与昆虫的生长发育状态相结合，以期进一步明确不同无性系对昆虫体内酶活性的影响。另外，分月扇舟蛾在抗性无性系上取食几代后能够适应，以及分月扇舟蛾取食抗性水平不同的无性系后体内的有关解毒酶如羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶活性的变化规律有待于进一步深入研究。

参 考 文 献 (References)

Cao FQ, Liu WX, Fan ZN, Wan FH, Cheng LS, 2008. Behavioural responses of *Bemisia tabaci* B-biotype to three host plants and their volatiles. *Acta Entomologica Sinica*, 51(8): 830 –838. [曹凤勤，刘万学，范中南，万方浩，程立生，2008. B 型烟粉虱对三种寄主植物及其挥发物的行为反应. 昆虫学报，51(8): 830 –838]

Cao H，Liu SQ，Zhao LL，Shi GL，Zeng XN，2003. The effects of the extracts from *Stellera chamaejasme* L. on the biological and enzyme activity of *Tetranychus viennensis* Zacher. *Scientia Silvae Sinicae*，39(1)：98 - 102.［曹挥，刘素琪，赵莉蔺，师光禄，曾鑫年，2003. 瑞香狼毒提取物对山楂叶螨的生物活性及酶活性影响. 林业科学，39(1)：98 - 102］

Chance B，Machly AC，1955. Assay of Catalases and Peroxidases. Academic Press，New York. 764 - 775.

Chen SW，2001. Correlation of catalase and peroxidase with pesticide tolerance in massonpine caterpillar. *Acta Entomologica Sinica*，41(1)：9 - 14.［陈尚文，2001. 马尾松毛虫过氧化氢酶及过氧化物酶与耐药性的关系. 昆虫学报，41(1)：9 - 14］

Ding SY，Li HY，Li XF，Zhang ZY，2001. Effects of two kinds of transgenic poplar on protective enzymes system in the midgut of larvae of American white moth. *Journal of Forestry Research*，12(2)：119 - 122

Fang J，Zhao BG，Yang ZD，2008. Resistance of certain clones of *Populus deltoides* to larva of *Clostera anastomosis*. *Entomological Knowledge*，45(1)：88 - 91.［方杰，赵博光，杨振德，2008. 美洲黑杨不同无性系对分月扇舟蛾幼虫的抗性. 昆虫知识，45(1)：88 - 91］

Fang JJ，Han YF，Hu JJ，Wang WZ，2002. Variation for phenolic glycosides and growth of a *Populus deltoids* back-cross population. *Scientia Silvae Sinicae*，38(4)：40 - 45.［房建军，韩一凡，胡建军，王文芝，2002. 美洲黑杨回交群体生长量与酚甙类次生代谢产物含量的变异. 林业科学，38(4)：40 - 45］

He Z，Cao HZ，Zeng JP，Liang YY，Han RD，Ge F，2007. Feeding preference of *Dendrolimus punctatus* Walker（Lepidoptera：Lasiocampidae）on pines *Pinus massoniana* and *P. elliottii*. *Acta Entomologica Sinica*，50(2)：125 - 135.［何忠，曹红珍，曾菊平，梁玉勇，韩瑞东，戈峰，2007. 马尾松毛虫对马尾松和湿地松的选择与适应研究. 昆虫学报，50(2)：125 - 135］

Jiang CK，Jin CD，Wu RL，1982. Methods for Determining Activity of Tool Enzymes. Shanghai Science and Technology Publishers，Shanghai. 51 - 54，74 - 78.［蒋传葵，金承德，吴仁龙，1982. 工具酶的活力测定. 上海：上海科学技术出版社. 51 - 54，74 - 78］

Li HP，Huang DZ，Yang MS，Zhang SH，2003. Selection of super poplar clones with high resistance to *Anoplophora glabripennis*. *Journal of Northeast Forestry University*，31(5)：30 - 32.［李会平，黄大庄，杨敏生，张世红，2003. 高抗光肩星天牛优良杨树无性系的选择. 东北林业大学学报，31(5)：30 - 32］

Li SF，Zhang B，Chen Y，Pan HX，Huang MR，2006. Analysis of genetic diversity of *Populus deltoides* germplasm by SSR. *Journal of Nanjing Forestry University（Natural Science Edition）*，30(4)：10 - 14.［李世峰，张博，陈英，潘惠新，黄敏仁，2006. 美洲黑杨种质资源遗传多样性的 SSR 分析. 南京林业大学学报（自然科学版），30(4)：10 - 14］

Li XJ，Yan XF，Luo YQ，Tian GF，Nian YJ，Zhang TL，2010. Cellulase activity and its relationship with host selection in the Asian longhorned beetle，*Anoplophora glabripennis*（Coleoptera：Cerambycidae）. *Acta Entomologica Sinica*，53(10)：1179 - 1183.

Li ZY，Chen HS，Yuan XH，Xu ZC，Wang Y，1998. Induced chemical defenses of *Pinus tabulaeformis* Carr. to *Dendrolimus spectabilis* Butler. *Scientia Silvae Sinicae*，34(2)：43 - 50.［李镇宇，陈华盛，袁小环，许志春，王燕，1998. 油松对赤松毛虫的诱导化学防御. 林业科学，34(2)：43 - 50］

Li ZZ，Shen HJ，Jiang QG，Ji BZ，1994. A study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomologica Sinica*，37(4)：399 - 403.［李周直，沈惠娟，蒋巧根，嵇保中，1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报，37(4)：399 - 403］

Liang HZ，Chen Q，Zhang QS，Liang XM，Zhao RQ，Tian HP，2009. Influence of host plants on the development and survival of *Clostera anachoreta*. *Forest Pest and Disease*，28(2)：13 - 14.［梁洪柱，陈倩，张秋双，梁晓梅，赵若琼，田会鹏，2009. 寄主植物对杨扇舟蛾生长发育和存活的影响. 中国森林病虫，28(2)：13 - 14］

Liu HX，Dong YX，Wu WJ，1998. Effects of celangulin V on the midgut cells and the digestive enzyme activities of *Mythimna separata*（Walker）larvae. *Acta Entomologica Sinica*，41(3)：258 - 262.［刘惠霞，董育新，吴文君，1998. 苦皮藤素 V 对东方粘虫中肠细胞及其消化酶活性的影响. 昆虫学报，41(3)：258 - 262］

Picard S，Chenault J，Augustin S，Venot C，1994. Isolation of a new phenolic compound from leaves of *Populus deltoides*. *Journal of Natural Products*，57(6)：808 - 810.

Simon L，Fatrai MZ，Jonas DE，Matkovics B，1974. Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgris*. *Biochem. Physiol.*，166：387 - 392.

Swain T，Hillis W，1959. The phenolic constituents of *Prunns domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*，10：63 - 68

Wang MQ，Li ZZ，2002. Studies on the activities of enzymes of protective system during diapause of sawfly *Chinolyda flagellicornis*. *Scientia Silvae Sinicae*，38(4)：100 - 104.［王满囷，李周直，2002. 滞育期间鞭角华扁叶蜂保护酶系统活力. 林业科学，38(4)：100 - 104］

Wang N，Zhang ZC，Wang MQ，Wu SB，Li H，Zhang GA，2008. Effects of putrecine on development and activities of protective enzymes of diamondback moth，*Plutellaxy lostella*. *Entomological Knowledge*，45(4)：573 - 576.［王楠，张志春，王满囷，吴胜兵，李慧，张国安，2008. 腐胺对小菜蛾幼虫生长及保护酶活力的影响. 昆虫知识，45(4)：573 - 576］

Wang WX，Liao FY，Mo JC，2000. The effect of genkwanin active extract on digest enzymes and tissue structures of *Pieris rapae*. *Scientia Silvae Sinicae*，36(5)：69 - 72.［王问学，廖飞勇，莫建初，2000. 芫花乙醇粗提物对菜粉蝶幼虫消化酶系的影响. 林业科学，36(5)：69 - 72］

Zeng FR，Cohen AC，2000. Partial characterization of α-amylase in the salivary glands of *Lygus hesperus* and *L. lineolaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*，126：9 - 16.

Zhang LX，Zhang TF，Li LY，1997. Methods and Techniques of Biochemical Experiments. Higher Education Press，Beijing. 111 - 116.［张龙翔，张庭芳，李令媛，1997. 生化实验方法和技术.

北京：高等教育出版社. 111 –116]

Zhang ZL, Qu WJ, 2003. Experimental Guide for Plant Physiology. Higher Education Press, Beijing. 62 – 73. [张志良, 瞿伟菁, 2003. 植物生理学实验指导. 北京：高等教育出版社. 62 –73]

Zhou MZ, 1992. Principle of Crop Insect Resistance and Application. Beijing Agricultural University Press, Beijing. 109 – 110. [周明牂, 1992. 作物抗虫性原理及应用. 北京：北京农业大学出版社. 109 –110]

Zhu J, Cao KM, Zhou RQ, Cai WC, Yuan HJ, 1981. Biochemical Experiments. Shanghai Science and Technology Publishers, Shanghai. 186 –190. [朱俭, 曹凯鸣, 周润琦, 蔡武城, 袁厚积, 1981. 生物化学实验. 上海：上海科学技术出版社. 186 –190]

Zhu JH, Zhang FP, Ren HG, 2005. Development and nutrition of *Prodenia litura* on four food plants. *Entomological Knowledge*, 42(6): 643 –646. [朱俊洪, 张方平, 任洪刚, 2005. 四种食料植物对斜纹夜蛾生长发育及营养指标的影响. 昆虫知识, 42(6): 643 –646]

Zhu-Salzman K, Koiwa H, Salzman RA, Shade RE, Ahn JE, 2003. Cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* uses a three-component strategy to overcome a plant defensive cysteine protease inhibitor. *Insect Molecular Biology*, 12(2): 135 –145.

（责任编辑：袁德成）